

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表平8-501313

(43)公表日 平成8年(1996)2月13日

(51)Int.Cl.⁸
A 61 K 38/00

識別記号
AAH

府内整理番号
9455-4C

F I

A 61 K 37/02

AAH

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 35 頁)

(21)出願番号 特願平6-508249
(86) (22)出願日 平成5年(1993)9月14日
(85)翻訳文提出日 平成7年(1995)3月14日
(86)国際出願番号 PCT/US93/08662
(87)国際公開番号 WO94/06455
(87)国際公開日 平成6年(1994)3月31日
(31)優先権主張番号 07/944,823
(32)優先日 1992年9月14日
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 08/110,399
(32)優先日 1993年8月23日
(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 リジエネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレーテッド
アメリカ合衆国、ニューヨーク・10591-6707、タリイタウン、オールド・ソーミル・リバー・ロード・777
(72)発明者 シウシアク、ジュディス
アメリカ合衆国、ニューヨーク・10591、タリイタウン、サウス・ブロードウェイ・128
(72)発明者 アルター・チャールズ・エイ
アメリカ合衆国、ニューヨーク・10536、カトナー、リリー・ポンド・レーン・31
(74)代理人 弁理士 川口 義雄 (外2名)
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ニューロトロфинを使用する鎮痛作用生起方法

(57)【要約】

好ましくは縫線核または中脳水道周囲灰白質域に送達されるニューロトロфинを使用する、鎮痛作用を生起する方法。

【特許請求の範囲】

1. 鎮痛作用を生起すべくヒトまたは動物身体を処置する方法に使用するためのニューロトロフィン。
2. 鎮痛作用を生起すべくヒトまたは動物身体を処置するための医薬の製造におけるニューロトロフィンの使用。
3. 前記ニューロトロフィンが trkB レセプターを結合する請求項1または2に記載のニューロトロフィンの使用。
4. 前記ニューロトロフィンがBDNFまたはNT-4である請求項3に記載のニューロトロフィンの使用。
5. 前記ニューロトロフィンが trkC レセプターを結合する請求項1または2に記載のニューロトロフィンの使用。
6. 前記ニューロトロフィンがNT-3である請求項5に記載のニューロトロフィンの使用。
7. 前記ニューロトロフィンを中脳に送達する請求項1から6のいずれか一項に記載のニューロトロフィンの使用。
8. 前記送達を、縫線核または中脳水道周囲灰白質の近傍に行う請求項7に記載のニューロトロフィンの使用。
9. 前記ニューロトロフィンを、縫線核の下降突起に沿って送達する請求項1から6のいずれか一項に記載のニューロトロフィンの使用。

10. 前記送達を脊髄中または脊髄周囲に行う請求項9に記載のニューロトロフィンの使用。
11. 前記ニューロトロフィンを縫線核の上行突起内に送達する請求項1から6のいずれか一項に記載のニューロトロフィンの使用。
12. 前記送達を、海馬、小脳または脳幹の近傍に行う請求項11に記載のニューロトロフィンの使用。
13. 柔組織内、脳室内または莢膜内注入を含む請求項1から12のいずれか一項に記載のニューロトロフィンの使用。
14. 前記ニューロトロフィンを、リポソーム、マイクロカプセル、ポリマーも

しくはろうベース制御放出製剤、錠剤、丸剤、もしくはカプセル形態、またはトランسفェクト細胞において投与する請求項1から13のいずれか一項に記載のニューロトロфинの使用。

15. 鎮痛作用を生起すべくヒトまたは動物身体を処置する方法に使用するための、ニューロトロфинシグナル伝達経路を活性化する物質。

16. 鎇痛作用を生起すべくヒトまたは動物身体を処置する医薬の製造における、ニューロトロфинシグナル伝達

経路を活性化する物質の使用。

17. 前記物質がtrkBアゴニストまたはtrkCアゴニストである請求項15に記載の物質または請求項16に記載の物質の使用。

18. セロチン代謝を含む疾患または異常に対抗すべくヒトまたは動物身体を処置する方法に使用するためのニューロトロфин。

19. セロチン代謝を含む疾患または異常に対抗すべくヒトまたは動物身体を処置する医薬の製造におけるニューロトロфинの使用。

20. 前記疾患または異常が、自閉症、不安、活動充進または食欲不振である請求項18または19に記載のニューロトロфинの使用。

【発明の詳細な説明】

ニューロトロフィンを使用する鎮痛作用生起方法

本発明は1992年9月14日出願米国特許出願第07/944,823号明細書の一部係属出願であり、該特許出願明細書全体は参照により本明細書の一部を構成するものとする。

発明の分野

疼痛治療に有効な薬剤は早くも紀元前3世紀には人に使用されているが、有害または望ましくない副作用なしに疼痛感を緩和する治療法の研究が続けられている。分子生物学及び神経生物学の化学的進歩により、かかる治療法の合理的な薬剤様が現実に可能なものとなってきた。

疼痛伝達と鎮痛作用

哺乳動物においては、有害刺激に対して選択的に応答する受容器は侵害受容器として知られている。2組の別個の末梢性感覚ニューロンが主に痛覚の作用を担う。第1のA_δ侵害受容性ニューロンは有髓軸索を含み、主に侵害性熱及び機械的刺激によって興奮される。無髓軸索を有しC線維として公知の2組目の侵害性ニューロンは、高密度の機械的、化学的及び熱的刺激によって活性化される。各組のニューロンは後根神経節内に細胞本体を有する。それらの

プロセスは疑似単極性であり、脊髄の外側部 (periphery) に終わる軸索と、脊髄後角内のニューロンに終わる軸索とがある。

鎮痛作用 (analgesia) は、意識消失を伴わない疼痛感覚の欠如である。近年、刺激誘発性鎮痛作用 (stimulation-produced analgesia, SPA) や、外来性オピオイド、例えばモルヒネ及び内因性オピオイドによって惹起される鎮痛作用を含む種々の研究ラインがまとまって、疼痛が阻害される機構を説明するモデルが出来上がっている [包括的検証にはKelly, Dennis, (1985) "Central Representations of Pain and Analgesia", Principles of Neural Science, Kandel及びSchwartz編参照]。

鎮痛作用を誘発する公知の第1手段は、モルヒネのような植物性オピオイド麻酔薬を使用することによる。最近行われたシナプス後部のオピオイド受容体の特

性分析により、オピオイド受容体に同様に結合し、それによって鎮痛作用を生起する天然の内因性オピオイドが発見された。内因性オピオイドとしては、met-及びleu-エンケファリン並びに β -エンドルフィンが挙げられる。

鎮痛作用は、第3脳室、中脳水道及び第4脳室を取り巻

く灰白質、特に脳の縫線核（raphe核）または中脳水道周囲灰白質域を電気刺激することによっても生成され得る。かかる刺激により完全な、しかもかなり長時間にわたる鎮痛作用がもたらされる。刺激誘発性鎮痛作用は、中脳水道周囲灰白質を破壊しても増大されない。このことは、この領域が疼痛中継に関与せず、むしろその作用は脊髄の後角及び三叉神経核内への求心性入力の阻害への能動的関与によるものであることを示している。実際、電気刺激は、オピオイドペプチドを使用したときに認められるものと極めて類似の態様で脊髄感覚ニューロンを阻害すると見られる。麻酔性アンタゴニスト ナロキソンは、モルヒネ及び刺激のどちらに誘導された鎮痛でもブロックする。

モノアミン神経伝達物質セロトニン（5-ヒドロキシトリプタミン；5HT）は、刺激誘発性鎮痛作用並びに内因性及び外来性オピオイド鎮痛作用における鎮痛機構に共有の要素（link）であると見られている。セロトニン合成をブロックする物質を用いたりセロトニンに富む背側縫線核を切除することによりセロトニンを枯渇すると、電気刺激及び麻酔の疼痛鎮静能力がいずれもブロックされる。室周囲及び中脳水道周囲の灰白質中のニューロンが、髓質網形

成において縫腺核中のニューロンを励起させる。セロトニン作動性線維は脊髄背側索中を下降して膠様質内に終わり、そこで、エンケファリン作動性阻害性ニューロンを活性化すると考えられている。疼痛に関する一次求心性ニューロンC線維を刺激すると、強力なニューロペプチドサブスタンスP、カルシトニン、遺伝子関連ペプチド（CGRP）及びソマトスタチン並びに「高速」神経伝達物質グルタメートが放出される。活性化されたエンケファリン作動性阻害性ニューロンは次いで、かかる神経伝達物質の放出をシナプス前部阻害制御し、疼痛感覚をブロックする。

オピオイドの鎮痛作用は当初は強力であるが、主に耐薬性及び薬物依存性が生起することで、それらの使用は未だ制限されている。更にオピオイドは、呼吸抑制及び便秘を含む広範な所望されない副作用を生む。

非ステロイド系抗炎症剤（N S A I D）は、別の疼痛治療法を提供する。それらの作用様式は、プロスタグランジンの生合成の作用を担う酵素であるシクロオキシゲナーゼを阻害することによると考えられている。

鎮痛薬としては、N S A I Dは、オピオイドに伴なう副作用の多くをC N Sに及ぼすことはなく、また依存症をも

たらすこともない。しかしながらN S A I Dは低～中度の疼痛にしか有効でなく、強い疼痛には一般に有用ではない。更にN S A I Dは、胃または腸の潰瘍形成を誘発する傾向及び血小板機能の妨害を含む、所望されない副作用を有する。

広範な鎮痛物質が入手可能でありながら、所望されない副作用のない薬剤は未だにない。

ニューロトロフィン

脳由来ニューロトロフィン因子 (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF) [Bardeら, (1987) ; Leibrockら, Nature 341: 149-152 (1989)]、ニューロトロフィン-3 (NT-3) [Maisonpierreら, Science, 247: 1446-1451, (1991)] 及びNT-4 [Ipら, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A., 89, 3060-3064 (1992)] はそれぞれ、コリン作動性 [Aldersonら, Neuron 5, 297-306, (1990)]、ドーパミン作動性 [Hymanら, Nature 350: 230-232, (1991a) ; Kunselら, (1991)] 及びGABA作動性 [Hymanら, Soc. Neurosci. Ab. 17: 908, (1991b)] の中枢性ニューロンを含む、別個のクラスのニューロンのin vitro生存性または表現型発現を増強する。

ニューロトロフィン、特にBDNFのin vivo作用に関する研究により、種々のニューロン細胞の生存性を維持すると共にその機能または表現型を調節することにおけるそれらの作用が確認された。BDNFを慢性的に中隔核内に注入すると、内側中隔核内にしみをつくるコリン作動性ニューロンのaxotomy誘発性損失

のほとんどを防止し得る [Morseら, 印刷中]。他の点では無傷のラットにおいて、BDNFを黒質上に慢性的に注入すると、顕著な拳動応答が生起され、同側尾状核-被殻におけるホモバリニン酸 [ドーパミンの分解産物; HVA] の増加により判断されるところのドーパミン代謝が上昇し、ジヒドロキシフェニルアセティック/ドーパミン及びHVA/ドーパミン比は更に大きく上昇する [Altarら, Proc.Natl.Acad.Sci., (USA) (印刷中)]。

[1251] NT-3に対する高親和性部位が内側黒質及び腹側被蓋、側座核 (nucleus accumbens)、尾状核-被殻及び縫線核内に認められており、これらの部位への結合はBDNFによって強力に置き換えられる [Altarら, Am. Acad. Neurol. San Diego, CA., (1992)]。BDNF mRNAは上記領域中にも存在し、チロシンヒドロキシラーゼ

(TOH)陽性細胞と重複すると見られる [Gallら, (1992), 未発表知見]。

[1251] 標識NT-3またはBDNFを線条体内に注入すると、上記と同じ領域にあるTOH陽性細胞内の放射能が逆輸送され蓄積する結果となる [Wiegandら, Soc. Neurosci. AB., 17: 1121, (1991)]。脳の各部において、NT-4結合は、皮質、線状体、海馬、小脳、嗅球、中脳水道周囲灰白質及び縫線核を含む脳全体に広く分布していることが判っている。

in vitro活性及びin vivo結合データに基づき、BDNF、NT-3及びNT-4の作用は、かかるニューロンを含むまたはかかるニューロンによって刺激される脳領域にまで及ぶことが推定される。

発明の要約

広義には本発明は、サイトカイン、好ましくはニューロトロフィンを哺乳動物に送達することにより鎮痛作用を与えて疼痛を緩和する方法を特徴とする。

本発明は更に、セロトニンに関する疾患または異常を治療する方法であって、サイトカイン、好ましくはニューロトロフィンを使用して脳及び脊髄中でのセロトニンの回

転 (turnover) を増大する方法をも特徴とする。

好ましい実施態様においては、脳由来ニューロトロフィン因子（BDNF）を、哺乳動物の中脳の縫線核または中脳水道周囲灰白質域の近傍に送達し、疼痛を阻害する。

図面の簡単な説明

図1：未処置ラット（対照）と、BDNFもしくはNT-3（ $12\mu\text{g}/\text{日}$ ）またはPBSビヒクル（ $12\mu\text{l}/\text{日}$ ）を中脳のPAG/DR近傍に、5、7、8または11日間注入したラットのtail flick潜伏時間（latency）を示す。値は、n=6~8／グループの平均±SEMである。メトファン（metofane）吸入により8日目に麻酔した。

図2：PBSビヒクル（ $12\mu\text{l}/\text{日}$ ）またはBDNF（ $24\mu\text{g}/\text{日}$ ）、NT-3（ $24\mu\text{g}/\text{日}$ ）もしくはNT-4（ $11.5\mu\text{g}/\text{日}$ ）を、1、5または11日間i.c.v.注入したラットのtail flick潜伏時間を示す。示した値は、7~8ラット／グループの平均±SEMである。

図3：ビヒクル、BDNFまたはNT-3（ $12\mu\text{g}/\text{日}$ ）を両側黒質上に18日間連続して注入したとの新線条体（図3A）及び側座核（図3B）における5HT及び

5HIAA濃度並びに5HIAA/5HT比を示す。 $*p < 0.05$ 及び $**p < 0.01$ vs. ビヒクル, Dunnettのt検定。n=2~7／グループ。

図4：ビヒクル、BDNFまたはNT-3（ $12\mu\text{g}/\text{日}$ ）を両側側座核に17日間連続して注入したとの、側座核及び新線条体における5HIAA濃度の増加を示す。

$*p < 0.05$ 及び $**p < 0.01$ vs. ビヒクル, Dunnettのt検定； $+p < 0.05$, $++p < 0.02$ vs. ビヒクル, 比較t検定。n=3~6／グループ。

図5：BDNFまたはNT-3を両側側座核に2週間注入したとの、側座核（図5A）及び新線条体（図5B）におけるMAO-A（モノアミンオキシダーゼA；セロトニン基質）及びMAO-B（モノアミンオキシダーゼB；フェネチルアミン基質）の活性は、ビヒクル注入被検動物と変わらなかった。値は、n=

3～6／グループの平均±S E Mである。

図6：PBSビヒクル（ $12\mu l$ ／日）またはBDNF（ $24\mu g$ ／日）、NT-3（ $24\mu g$ ／日）もしくはNT-4（ $11.5\mu g$ ／日）を、1、5または11日間i.c.v.注入したラットの熱板潜伏時間を示す。示した値は、7～

8ラット／グループの平均±S E Mである。

発明の詳細

本発明は、治療上有効量のニューロトロフィンを投与することにより、哺乳動物において鎮痛作用を生起する方法に係わる。これは、一部には、ニューロトロフィン、特にBDNF、NT-3及びNT-4が、脳の縫線核または中脳水道周囲灰白質の近傍に送達されると鎮痛作用を誘発し得るという本発明者らの知見に基づいている。

ニューロトロフィンファミリーとしては、脳由来ニューロトロフィン因子(BDNF)、ニューロトロフィン-3(NT-3)及びニューロトロフィン-4(NT-4)が挙げられるが、これら全ては最近分子クローニングされており、配列相同性により神経成長因子(NGF)ファミリーの一員であることが示されている[Leibrockら, *Nature* 341: 149-152, (1989); Hohnら, *Nature*, 344: 339-341, (1990); Maisonnierら, *Science*, 247: 1446-1451, (1990a); Roseenthalら, *Neuron* 4: 767-773, (1990); Ernforsら, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 87: 5454-5458 (1990); Jonesら, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 87: 8060-8064 (1990); H

allbookら, *Neuron* 6: 845-858, (1991); Ipら, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 89: 3060-3064 (1992)]。このタンパク質ファミリーは、発達中及び成人の両方の脊椎動物神経系において重要な役割を果たしており、ニューロン生存性を支援するとともに、神経伝達物質合成のごときニューロン機能を調節する。

本発明を実施する上で有用なサイトカインとしては、限定的ではないが、trkBまたはtrkCレセプターに結合するニューロトロフィンが挙げられる。明確な研究